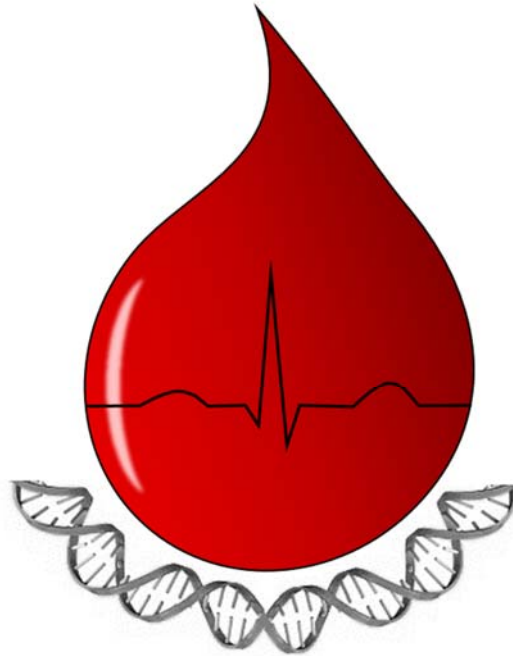




UMEÅ UNIVERSITET



BIOMEDICINSK
ANALYTIKERPROGRAMMET

Metodvalidering av IGF-1 med ECLIA på Cobas e601 system

Kevin Berggren

Examensarbete, 15 hp
Biomedicinsk analytikerprogrammet, 180 hp
VT 2019



Method Validation of IGF-1 with ECLIA on COBAS e601 System

Handledare

Eva Sörstam, Örnsköldsviks sjukhus

Markus Lindqvist Odutuyo, Sundsvalls sjukhus

Ylva Hedberg Fransson, Umeå universitet

Läroproponent: Birgitta Sundström

Examinator: Mari Norgren

Datum för godkännande: 2019 06 25

Abstrakt

Insulin-like Growth Factor-1 (IGF-1) är en polypeptid på 7 649 Da bestående av 70 aminosyror vars struktur liknar insulin. IGF-1 används som markör för tillväxthormon relaterade sjukdomar och kan analyseras med olika antigen beroende metoder exempelvis Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) på Dynex DS2 eller Electrogenerated Chemi Luminescence Immuno Assay (ECLIA) på Cobas 6000. Syftet var att jämföra analystid, provresultat, hanteringstid av prover, mängd lösningar och kontroll pålitlighet för att se om Cobas är lämplig för övertagande av IGF-1 analysen från ELISA. Serumprover från 50 patienter användes under arbetet. Undersökning av kontrollnivåerna för respektive metod gav lägre spridning för ECLIA medan för ELISAs var kontrollvärden utanför 2SD gränsen sju gånger av 21. En jämförelse av instrumentens analysvärden gav en medelskillnad på 31,6%. En påverkan av transporten med 11% nivåsänkning noterades vid jämförelse av mätvärden för ELISAs och ECLIAS. Konklusionen av studien var att ECLIA metoden var lämplig för analys av patientprover men analyser med respektive instrumenten bör utföras på samma plats för att utvärdera eventuell inverkan av provtransport.

Nyckelord

IGF-1, COBAS, ELISA, serum baserad analys, Pearsons korrelationskoefficientsanalys, Transportpåverkan.

Introduktion

Insulin-like Growth Factor-1 (IGF-1), även kallad Somatomedin C, är en polypeptid på 7 649 Da bestående av 70 aminosyror vars struktur delar liknande tertiär struktur, primär aminosyrasekvens och sekretionsvägar med medlemmarna i "insulins superfamilj". Den åtskiljande faktorn för dessa medlemmar är specifika receptorer vilka har olika effekter på utveckling under uppväxt (1-3). Funktionen av IGF-1 liknar samtidigt ett endokrint, parakrint och autokrint hormon då den har effekt på olika vävnader såsom tidig CNS utveckling och neural plasticitet samt har inverkan på tillväxt, utveckling och metabolism (1-3). Sekretion av IGF-1 utförs av alla kroppens celler men primärt av levern vilken står för 75% av produktionen. (1, 4).

Reglering av IGF-1 utförs av tillväxthormon (GH) där en hög halt av GH ger hög halt av IGF-1 vilket möjliggör användning av IGF-1 som markör av GH relaterade sjukdomar. Höga värden leder till gigantism i ung ålder och akromegali i vuxen ålder med brosk samt bentillväxt i ansikte, fötter och händer som följd (1). Sänkta värden leder till bromsad tillväxt, vilket återfinns vid undernäring, kronisk sjukdom och tillväxthormonbrist (1, 5). Vid tillväxthormonbrist används IGF-1 vid utredningar av behandlingens effektivitet (5). IGF-1 analysen används för att i ett tidigt skede vid misstänkt minskad tillväxt "dvärgväxt" eller hormonbrist ge möjlighet till behandling som leder till en normal utveckling och förhindrar hälsoriskerna som onormal växt orsakar inklusive påverkan på organ och utseende.

Mängden IGF-1 i kroppen är främst påverkad av ålder och den naturliga toppen nås vid 16 års ålder och därefter minskar nivån succesivt (4, 5). Efter invasiva operationer har en sänkning av IGF-1 nivåer noterats vilken misstänks bero på stress orsakad av operationen alternativt så orsakas nivå-sänkningen av akutfas proteiner med inhibitorisk effekt vilka utsöndras vid operationen. Även GH påverkas av invasiva operationer vilket, till skillnad från IGF-1, leder till ökad utsöndring med efterföljande kortvarig resistans mot GH och minskning av anabol respons till denna (6).

I kroppen cirkulerar tre varianter av IGF-1, där mindre än 1% utgörs av fritt IGF-1. Cirka 80% är i ett komplex bestående av Insulin-like Growth Factor Binding Protein 3 (IGFBP-3) och Acid-labile Subunit (ALS). Cirka 20% är bundet endast till IGFBP-3. Även den nära besläktade IGF-2 cirkulerar i kroppen, antingen fritt eller bundet till IGFBP-3. Komplexet av IGF-1, IGFBP-3 samt ALS ger förlängd halveringstid samt kontrollerar koncentrationen av fritt IGF-1 och den lokala effekten (6). Vid analys krävs fritt IGF-1 vilket fås genom separation av bundet IGF-1 från IGFBP och ALS genom en pH sänkning exempelvis med tillsatts av utspädd HCl sänks pH <3,1 (10) vilket resulterar i en nästan 100% halt av fritt IGF-1. Det fria IGF-1 binder till två antikroppar mot IGF-1 och bildar ett sandwichkomplex (7).

Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) är en snabb och känslig metod för detektion och kvantifiering av antigen via en enzyms bunden antikroppsmetod. ELISA används inom flera områden såsom kliniskt laborativt arbete, forskning och matindustrin tack vare dess diagnostiska och kvantitativa funktion (8). Det finns fyra primära analysprinciper för ELISA, direkt, indirekt, kompetitiv samt sandwich. Sandwichprincipen utgår från antikroppstäckta brunnar som vanligen är placerade i mikrotiterplattor, till vilka antigen i form av ett prov tillsätts. Antigenet, i detta fall IGF-1,

binder till den brunnfästa antikroppen och bildar ett komplex vilket möjliggör eliminering av övriga ämnen i provet med tvättsteg. Efter tvätt kvarstår endast IGF-1 bundet till plattan. Därefter tillsätts ytterligare antikroppar bundna till enzym likt horseradish peroxidase (HRP) (8, 9) vilka vid kontakt med stabiliserat H₂O₂-tetrametylbensidin skiftar färg till blått och vid kontakt med saltsyra får slutfärgen gul varav ELISA Dynex DS2 mäter mängden ljus vid 450 nm samt 620 nm som absorberas fotometriskt. Högre mängd ljus absorberat ger högre halt IGF-1 vilket i sin tur indirekt visar på högre halt GH. Mätintervallet för IGF-1 ELISA är 42–1050 µg/L vid 1:21 spädning samt 20–500 µg/L vid 1:10 spädning (10).

Likt ELISA är Cobas e601 ett pålitligt instrument för analys av prover och använder också immunkemisk teknik. Det som skiljer är analysprincipernas avläsning varav ECLIA verkar genom Electrogenenerated ChemiLuminescence ImmunoAssay (ECLIA) varav denna metods grundprincip utgår från mätning av avgivet ljus orsakad av ett instabilt ruthenium i sandwich komplexet (7). Efter tillsats av prov och reagens separeras de till mikropartiklar bundna antikropp/antigen komplexen magnetiskt med en elektrod och övrig lösning tvättas bort med buffert. Elektroden aktiveras med spänning vilket skapar ett elektriskt fält som startar ECLIA reaktionen. Det elektriska fältet oxiderar Ruthenium-tris(bipyridil)²⁺ till Ru(bpy)₃³⁺ och vidare till det ostabila, laddade stadiet Ru(bpy)₃²⁺. Den instabila formen sönderfaller med ljusavgivning och mäts med fotomultiplikator. Signalen omvandlas till ett resultat i instrumentet. Mätintervallet för IGF-1 analyserat på Cobas är 7–1600 µg/L (7).

Metodvalidering innebär undersökning av en metods lämplighet för användning i praktiken och normalt grundas beslutet på ett antal faktorer. I detta fall var det analystid, jämförbara resultat mellan metoderna och hanteringstid.

Syftet var att jämföra analystid, hanteringstid av prover, kontrollresultat, provresultat och mängden lösningar för att se om Cobas är lämplig för övertagande av IGF-1 analysen från ELISA.

Material och metoder

Blodprov, serum

Blodprov tagna i Vacutainer Serumseparationsrör (BD Vacutainer, Mississauga, Kanada) från 50 oidentifierade patienter (Klinisk kemi, Sundsvalls sjukhus) användes i denna metodvalidering. Patienternas ålder varierade mellan 1 år och 89 år. Av blodproverna hade 35 prover normala IGF-1 nivåer och 15 prover var utanför referensintervallet vilket var dokumenterat från analystillfällen med ELISA. Efter provtagning centrifugerades proverna enligt programmet för serumrör, 2200 g i 10 min och därefter hälldes serumet över till nya rör. Koncentrationen av IGF-1 analyserades med ELISA och sedan förvarades proverna i frysfrys inför transport till Örnsköldsvik.

Hantering och transport av prover

Prover transporterades från Sundsvalls sjukhus till Örnsköldsviks sjukhus via två transportmetoder för att undersöka om hantering och transport påverkade analysresultatet. Vid den första transporten, med 17 rör, var proverna inte frysta utan förvarades i kylskåp innan de fraktades tillsammans med kylklamp via tåg inför analys i Örnsköldsvik och efter analys förvarades proverna i frysfrys. Övriga transporter, med 33 patientrör och sju ELISA kontroller, transporterades frysta med normal biltransport i transportlåda med kylklamp från klinisk kemi vid Sundsvalls sjukhus till Örnsköldsvik. Temperatur av proverna noterades dock ej under transporten.

ELISA, DS2 system

ELISA (Dynex Magellan BioScience, Chantilly VA USA) metoden krävde manuell hantering av provmaterialet och för analysen användes kitet "Human Insulin Like Growth Factor-I ELISA E20" (Mediagnost, Kusterdingen, Tyskland). Innan analys spädde kontroll "låg" med förväntat värde på 95 µg/L och "hög" med förväntat värde på 440 µg/L (Lot: 300 718), blank utgjordes av frisk serumkontroll och patientproverna, 1:21 (25+500 µL) spädde med provbuffert PP från kittet genom reverse pipettering. Proverna blandades med Vortex och laddades i rack till Dynex DS2. Spädningsfaktorn 10 användes till prover under nedre referensvärdet 42 µg/L. Kit-komponenterna, kalibrator A till E (Lot: 300 718), Washbuffert (Lot: 060818), antikropps-konjugat AK (Lot: 300 718), enzymkonjugat EK (Lot: 300 718), stopplösning (Lot: 280 518), och substrat S (Lot: TMBWT10) placerades i instrumentet och sedan scannades alla lösningar in i instrumentet manuellt. Den manuella processen tog vid detta tillfälle 45 min. Analystid på instrumentet uppgick till 2 tim, varav 105 min bestod av inkubering i mikrotiterplatta (Lot: 060818). Efterarbete av prover uppgick till 15 min och denna tid inkluderade kontroll av kalibratorer och kontroller. Denna metod utfördes endast en gång per vecka.

ECLIA, COBAS 6000 e601 modul

Vid veckans uppstart utfördes kalibrering med Calset IGF-1 låg (IGF-1 Cal 1) och hög (IGF-1 Cal 2) kalibrator, (Roche Diagnostics, Sandhofer, Tyskland. Ref: Batch: 381 018 201). En ml avjonat vatten pipetterades till flaskan följt av 15 min väntetid för upplösning av det frystorkade humana serumet med rekombinant IGF-1 tillsatt varefter försiktig blandning utan skumbildning utfördes och fördelning av 250 µL per hitachi-kopp vilka placerades i frysfrys (-20°C).

Daglig kontroll utfördes med PreciControl Growth låg (PCG 1) och hög (PCG 2) (Roche Diagnostics, Sandhofer, Tyskland. Batch: 35 810 301). Tre ml avjonat vatten pipetterades till respektive flaska följt av 30 min väntetid för upplösning av det frystorkade humana serumet varefter försiktig blandning utan skumbildning utfördes. Till vardera kopp fördelades 150 µL, resulterande i 20 stycken varefter de placerades i frys (-20°C). Kontrollerna förväntades ligga vid 57,5 µg/L för Låg och vid 350 µg/L för Hög.

Förväntad väntetid innan patientprov kunde analyseras på Cobas vid parallell analys var ca 20 min, eftersom kalibrering och analys av kontroller gjordes först. Vid kontroll efter slutförd kalibrering förväntades väntetiden vara 40 min. Denna metod kan utföras löpande flera gånger per vecka och för mindre analyser som denna sker detta vid två till tre tillfällen per vecka i Sundsvall.

Kontroller

ELISAs kontroller utfördes veckovis vid analystillfället under perioden 11 december 2018 till 6 maj 2019 och ECLIAS kontrollerna utfördes under perioden 8 april 2019 – 8 maj 2019 och för ECLIA utfördes första 25 kontrollerna med 5 prover per dag enligt dubblett förmiddag (1 och 2, 6 och 7 osv) och triplett eftermiddag (3-5, 8-10 osv).

Statistik

Pearsons korrelationstest utfördes för att analysera om det fanns en korrelation mellan IGF-1 koncentrationerna analyserade med ELISA respektive ECLIA samt mellan färsk och transporterade prover. Statistiken utfördes med Excel och signifikansnivån tvådelad undersöktes med Korrelationskontroll genom T test, Formeln som användes var: $t = r/Sr = \sqrt{[(df)/(1-r^2)]}$. (r=korrelationskoefficienten, n=antal värden) df= n-2, (df=frihetsgrader). För att sedan beräknas med Excel genom =T.FÖRD(ABS(t-värde;Df;2delad)) = p värde. T-kritiskt värde beräknades med =TINV(0,05; Df)

Etiska överväganden

Provmaterialet för detta kliniska utvecklingsarbete bestod av aidentifierade patientprover sparade efter slutförd analys med ELISA metoden. Proverna hade fyllt sitt syfte och i normala fall kasseras de efter analys. Resultatet från metodvalideringen användes endast internt inom sjukhuset och kommer inte att publiceras och på grund av detta gjordes bedömningen att inget etiskt tillstånd krävdes.

Resultat

Kontroller

Undersökning av kontrollnivåerna för respektive metod gav lägre variationskoefficient för ECLIA hög och låg kontroll (Tab. 1) jämfört med ELISA. Samtidigt var ELISAs Låga kontroll utanför två*SD gränsen vid sju av 21 analystillfällen och den Höga kontrollen vid ett av 21 analystillfällen. (Fig. 1)

IGF-1 analys med ELISA

Mätintervall för IGF-1 analyserat med ELISA är 20-1050 µg/L och IGF-1 koncentrationen i samtliga 50 prover var inom mätintervallet, varav den lägsta var exakt samma som det nedre gränsvärdet. Av de 50 prover som analyserats kontrollerades tio prover för transportpåverkan av IGF-1 koncentrationen efter återtransport frysta till Sundsvall, där tre prover transporterade via tåg och sju prover via bil till Örnsköldsvik. De prover som hade transporterats hade 11% lägre IGF-1 koncentration jämfört med ursprungliga värdet och skillnaden var mellan 6% till 31% (Fig. 2). Detta utfördes endast med ELISA.

IGF-1 analys med ECLIA på Cobas

Mätintervall för IGF-1 analyserat med ECLIA är 7–1600 µg/L och koncentrationen i samtliga 50 prover var inom mätintervallet.

Jämföranden av värden ECLIA och ELISA

Efter sammanställning av resultat från respektive metod framkom en minskning av IGF-1 värdet för ECLIA jämfört med ELISA, mellan 45,51% och 7,73%, där medeländringen var 31,55%. Om de två värdena som gav större påverkan än resterande stryks ges ett medelvärde på cirka 25%, $y \sim 0,75$ (Fig. 3). En korrelation mellan ELISA och ECLIA analysvärden beräknades med dataanalys till 0,98 och korrelationens p värde beräknades tvådelat till $p=2,85 \cdot 10^{-35}$. Även med t-test sågs en skillnad mellan ELISA och ECLIA, T värde för korrelationen var 34,1 med 0,05 gräns t -kritisk 2,01.

Vid jämförelsen av referensintervallen för ELISA och ECLIA noterades att för män och kvinnor följde kurvan för de nedre referensintervallen mellan metoderna delvis i området 0,25 till 10, men sämre i intervallet 10 till 20 och till viss del vid värden över 20. Det övre intervallet för ELISA var cirka 100 enheter högre än ECLIA utom i små delar av området 10 till 20 (Fig. 4).

Diskussion

I detta arbete undersöktes om IGF-1 som analyserades med ELISA Dynex DS2 kunde ersättas med en ECLIA analys på Cobas 6000 med tanke på Cobas analystid, provhantering, antal lösningar, pålitliga kontrollnivåer och jämföra provresultaten.

Det förväntades vara något lägre analysvärden för proverna med Cobas ECLIA metod då ELISA gav ett högre resultat för kontrollerna med ca 15% vilket resulterade i att kontrollerna ibland var över två*SD gränsen med oregelbundna värden, trots att gränsvärdena för ELISA metodens kontroller utökats jämfört med det rekommenderade från Mediagnost. ECLIA kontrollerna var under arbetet stabilare md förväntade värde. Dock var tiden som kontrollerna analyserades kortare, en månad mot sex månader, vilket om kontrollerna utförts under samma förhållande som ELISA möjligen hade varit mindre stabila.

Värdena från ECLIA var lägre än förväntat med en sänkning på ca 31,55% från de ursprungliga ELISA värdena. Detta orsakades troligen av de ca 15% förhöjda resultaten från ELISA. Efter kontroll av transportpåverkan framkom även en skillnad på 11% mellan första analystillfället och test av tillbaka sända prover. Det är omöjligt att säga hur stor påverkan transporten hade på proverna i nuläget då transporten tillbaka troligen bidrog till skillnaden. För att se den sanna skillnaden mellan metoderna föreslås att innan metoden tas i bruk bör analysen utföras en period parallellt med ELISA och ECLIA vilket utesluter transportpåverkan. Ytterligare faktorer som kan påverkat resultatet är valet av provmaterialet, ECLIA metoden rekommenderade plasma och troligen var referensintervallet bestämt med plasma medans serum användes under arbete vilket var acceptabelt för analys enligt kitet (4). En påverkan av materialskillnaden testades inte och kan ha haft en viss effekt, vilket skulle vara av intresse om mer tester utförs senare.

De fyra resultaten som hamnade utanför referensintervallet orsakades troligen av ovan nämnda faktorer, den ca 11%-iga sänkning av nivåerna på grund av den transport samt den 15%-iga ökning med ELISA till totala möjliga påverkan med cirka 26%, vilket överensstämmer referensintervallen där övre gränserna skiljer sig och medför att en sänkning för Cobas ECLIA's analysvärden är trolig. Förslagsvis kan proverna analyseras med ECLIA efter pipettering utförts för ELISA metoden vilket skulle ge svar från båda metoder inom ett fönster på 3 tim. Det finns även en viss risk att Referensintervallet för Cobas behöver kalibreras för att överstämna bättre innan metoden tas i bruk, vilket redan har utförts för ELISA.

När det gäller material hade ELISA 15 specifika lösningar för analysen och ECLIA fem st och alla 15 behövde hanteras inför varje analystillfälle för ELISA medans för ECLIA hanterades endast kontroll och kalibrator, med byte av reagenset vid ett tillfälle per månad. Det manuella arbetet som krävdes för ELISA binder upp en person ur personalen i cirka 45 min innan analys och 15 min efter analys (7). ECLIA har istället endast manuell hantering för laddning av prover i instrumentet, där instrumentet utför spädningarna. Dock måste kalibratörer och kontroller utföras innan analys för ECLIA (10) medans ELISAs utfördes samtidigt som övriga prover men denna skillnad vägde inte upp tiden som krävdes av ELISA metoden (10). Vid optimala förhållande för ELISA kan maximalt 40 prover testas i

duplikat och 16 brunnar i en 96 hålsplatta används för tre kontroller, fem kalibratorer och en blank oavsett antalet prover. Svarstiden beräknas till cirka 4 tim där 2 tim används för endast analysen (10). Den totala analystiden inkluderar spädningen för kontroll, kalibrator och blank. ECLIA hade för 40 test en förväntad svarstid på 58 min utan kontroll och kalibrering och en tim 40 min med kontroll av utförd efter kalibrering (7, 10). Detta innebär att med ECLIA får personalen drygt en tim tillgodo vid varje analystillfälle jämfört med ELISA metoden.

Det maximala antalet möjliga parallella patientprover är 40 för ELISA och 50 för ECLIA varav ECLIA kan fyllas på löpande allteftersom prover analyseras färdigt (7, 10). Detta innebär förutom den ökade risken för fel orsakat av den mänskliga faktorn vid spädningen att personal inte är tillgänglig för andra analyser vilket indirekt leder till senare analys svar för övriga analyser än om ECLIA metoden används där personal endast är upptagen under tiden det tar att ladda proverna i instrumentet.

IGF-1 kan även analyseras med IMMULITE 1000 analyser metod (11), Masspektrometri och "Luquid chromatography tandem mass spectrometry" (13), metoder som inte undersöktes vid detta tillfälle.

Tidspåverkan av analysresultatet är av mindre vikt för diagnos av sjukdomar såsom kortväxthet, "dvärgväxt", och icke tumörorsakad akromegali då dessa analyser används som underlag för diagnos och inte bestämmer en patients sjukdomstillstånd (11, 12). Däremot är de fortfarande av vikt för patienten då en behandling kan påbörjas tidigare vilket vid exempelvis tumör orsakad akromegali både ger bättre resultat, tar mindre tid samt kostar samhället mindre och effektiviteten av en pågående behandling kan undersökas (12).

Konklusionen var att ECLIA metoden på Cobas borde kunna användas för konventionella prover men en period med utförande av ytterligare analyser rekommenderas för både ELISA och ECLIA inom ett kort tidsfönster för att ge den riktiga värdeskillnaden mellan metoderna samt ett korrekt korrelationsvärde.

Referenser

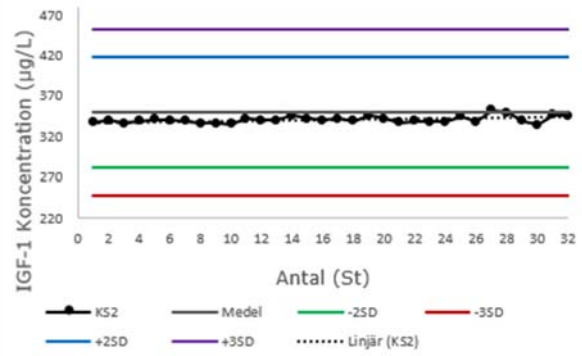
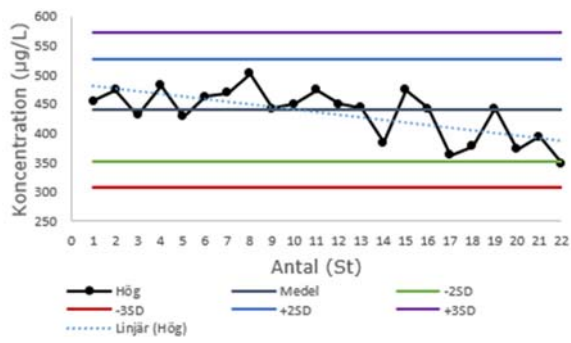
- 1: Costales J, Kolevzon A. The therapeutic potential of insulin-like growth factor-1 in central nervous system disorders. *Neurosci biobehav Rev* 2016;63: 207-222
- 2: Separovic F, Shabanpoor F, Wade J, chapter 1 the human insulin superfamily of polypeptide hormones. *Vitamins and Hormones* 2009;80: 1-31
- 3: Yakar S, Adamo M. insulin-like growth factor-1 physiology: lessons from mouse models. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2012;41(2): 231-247
- 4: Roche Diagnostics, Elecsys IGF-1 kit.
- 5: Laboratoriemedicin Västernorrland Sundsvalls sjukhus, 2018-03-20. P397-9
https://www.rvn.se/globalassets/delade-dokument/provtagningsanvisningar1/p397.docx? t_id=1B2M2Y8AsgTpgAmY7PhCfg%3D%3D& t_q=& t_tags=language%3Asv%2Csiteid%3A72996c3a-8927-4db4-94fo-1d04bc8eff9d& t_ip=66.249.70.27& t_hit.id=Knowit_EPi_Site_KitModules_Generic_Models_GenericMedia/_78362ada-e255-4f1 (hämtad 2019-03-28)
- 6: Floros T, Philippou A, Bardakostas D, et al. the growth endocrine axis and inflammatory responses after laparoscopic cholecystectomy. *HORM* 2016;15(1): 73–80
- 7: Elektronisk manual för Cobas 6000 system, del av programvaran.
- 8: Lin A. direct ELISA, *ELISA* 2015;1318: 61–67
- 9: Yamashita J, Kobayashi I, Tatematsu K, et al. sandwich ELISA using a mouse/human chimeric CSLEX-1 antibody. *Clin Chem* 2016;62(11): 1516-1523
- 10: Laboratoriemedicin Västernorrland Sundsvalls sjukhus, Markus Lindqvist. 2018-02-05. 10305–3, (hämtad 2019-03-28)
- 11: Zelazowska-Rutkowska B, Trusaik M, Bossowski A, et al. diagnostic usefulness of insulin-like growth factor 1 and insulin-like growth factor binding protein 3 in children with suspected pituitary dwarfism. *ClinLab* 2018;64(5): 759-765
- 12: Bolanowski M, Ruchala M, Zgliczynski, et al. diagnostics and treatments of acromegaly – Updated recommendations of the Polish society of endocrinology. *EP* 2019;70(1):2-18
- 13: Ketha H, Ravinder J, Singh. clinical assays for quantitation of insulin-like growth factor 1. *Ymeth* 2015;81(15): 93-98

14: Charles Zainotnz. real Statistics using excel, correlation testing via t test. <http://www.real-statistics.com/correlation/one-sample-hypothesis-testing-correlation/correlation-testing-via-t-test/>
(Hämtad 2019-06-21)

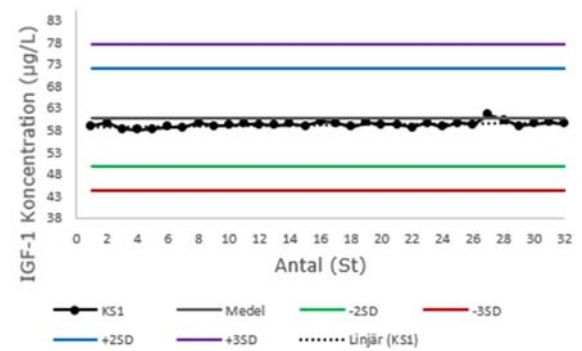
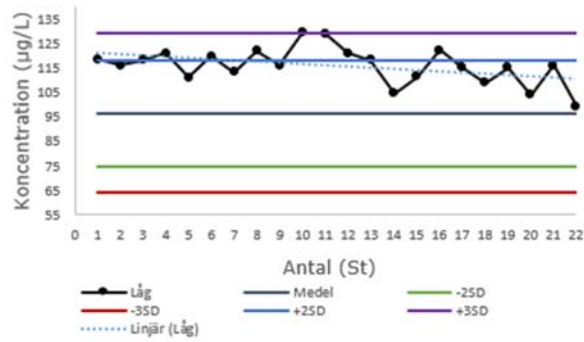
Tabell 1: Jämförande data av ELISA och ECLIA metoderna för Kontroller och Patientprover.

Material	ELISA			ECLIA		
	Låg kontroll	Hög kontroll	Patientprover	Låg kontroll	Hög kontroll	Patientprover
Antal (st)	22	22	50	32	32	50
Tidsperiod	6 månader	6 månader	1 månad	1 månad	1 månad	1 månad
Medelvärde (IGF-1)	116	434	305,1	59	340	218,1
Standardavvikelse	7,3	42,2	223,1	0,64	4,05	185,6
Variations- koefficient (%)	6,3	9,7	73,1	1,1	1,2	85,1

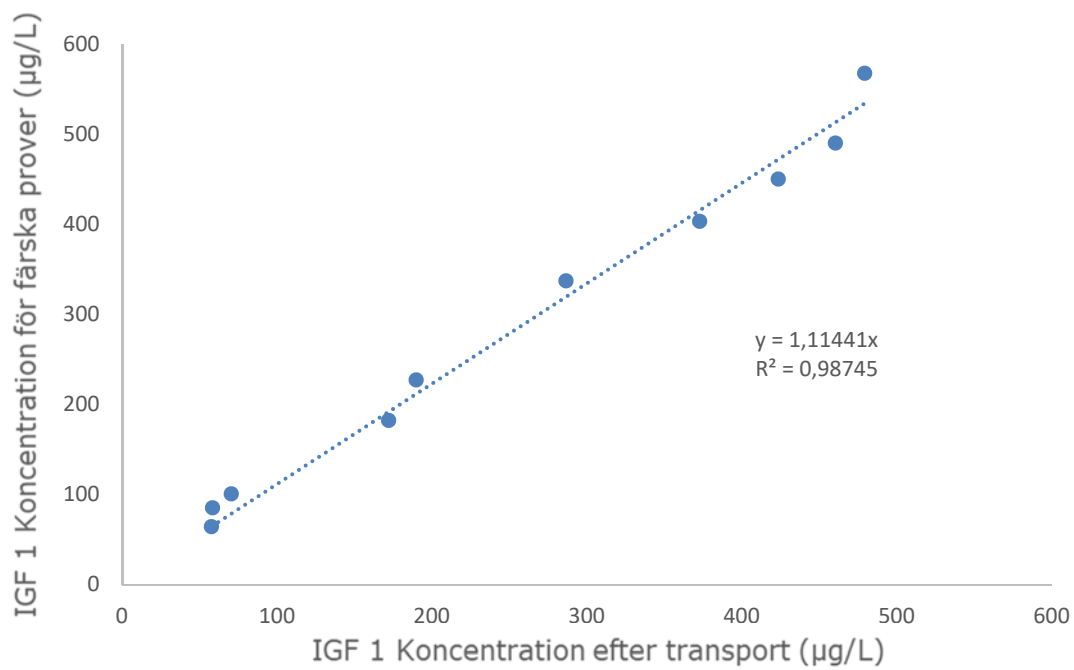
A



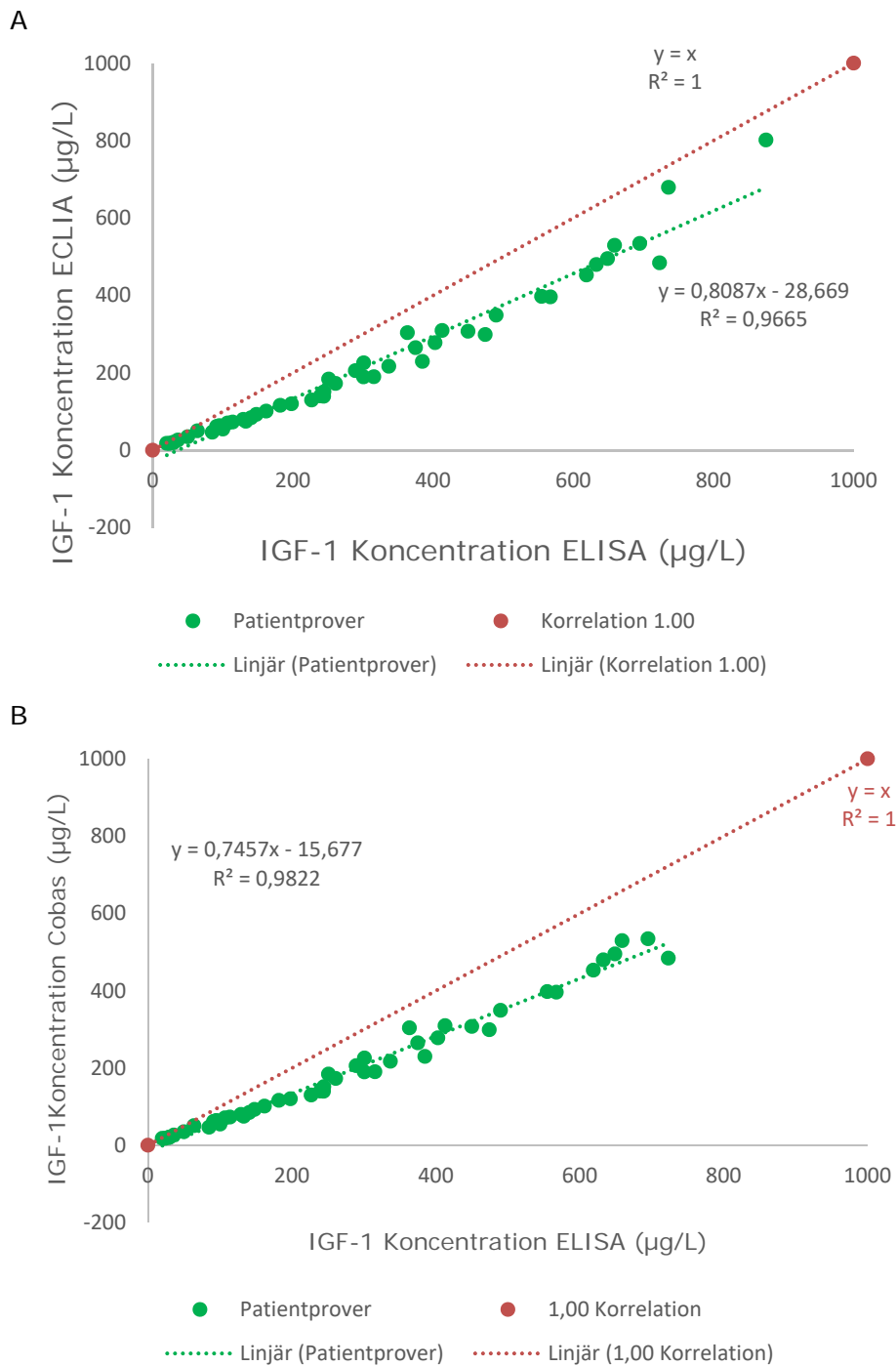
B



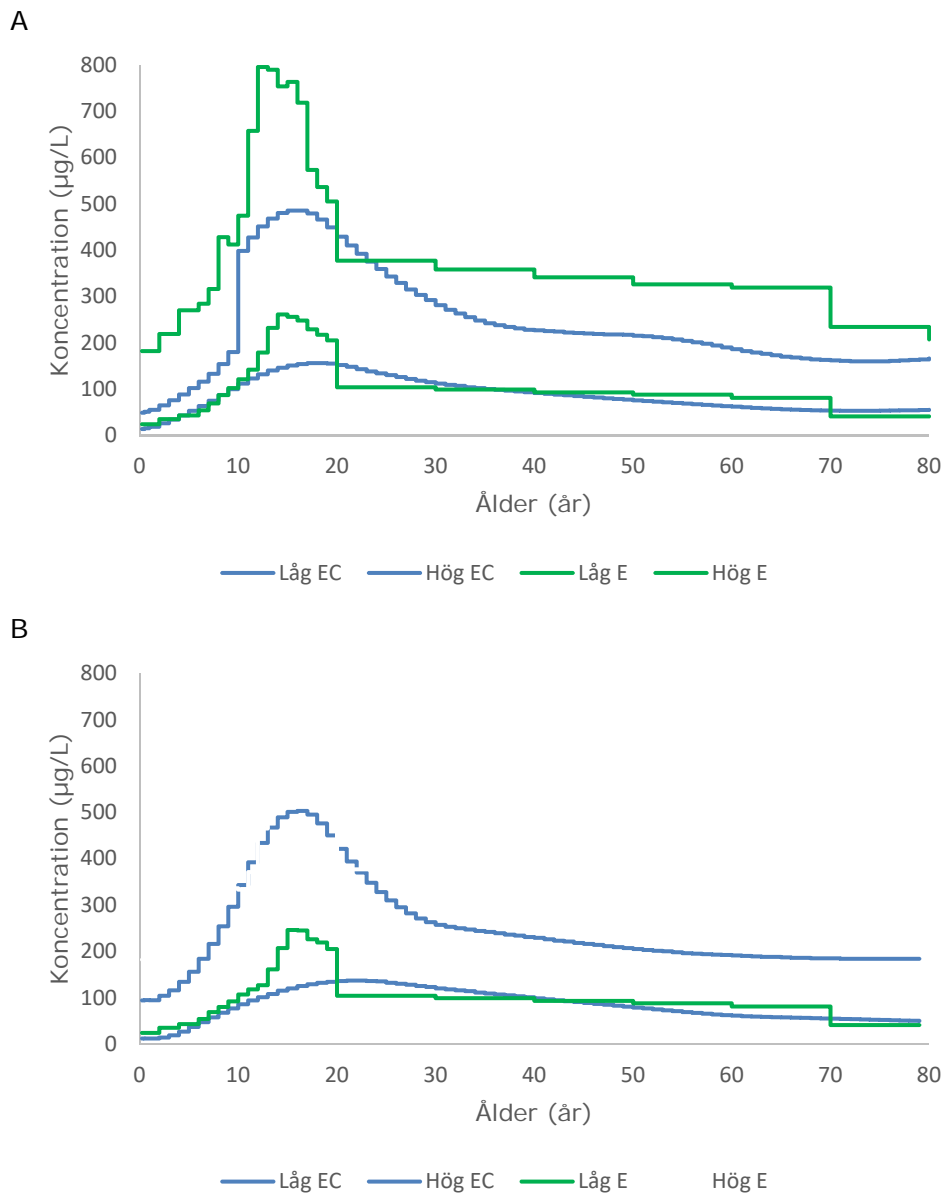
Figur 1. Vid analys av IGF-1 koncentration krävdes att metoderna ELISA och ECLIA först testades med både A) höga och B) låga kontroller. ELISA på vänster sida och ECLIA på höger sida.



Figur 2. Korrelation mellan IGF-1 analysvärden analyserade på ELISA för färska prover och prover återlämnade efter analys i Örnsköldsvik.



Figur 3. Koncentrationen IGF-1 analyserat med ELISA respektive Cobas korrelerar för A) alla 50 proverna och B) 48 prover med de två störst påverkande uteslutna.



Figur 4. Rekommenderat referensintervall ECLIA metoden mot ELISA metoden för varje åldersgrupp (4, 5). A) för kvinnor och B) för män. För Låg/Hög står E för ELISA och EC för ECLIA.